

16. Juni 2003

10 / 517518  
13 DEC 2004

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 1, JUL 2003

WIPO PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 25 876.7  
**Anmeldetag:** 11. Juni 2002  
**Anmelder/Inhaber:** Wilex AG,  
München/DE  
**Bezeichnung:** Guanidinophenylalaninverbindungen als  
Urokinase-Inhibitoren  
**IPC:** A 61 K 31/495

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 05. Juni 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Weihmayer

**Best Available Copy**

# WEICKMANN & WEICKMANN

Patentanwälte  
European Patent Attorneys · European Trademark Attorneys

Unser Zeichen:  
28037P DE/WWCGpusa

Anmelder:  
Wilex AG  
Grillparzerstraße 10  
81675 München

DIPL.-ING. H. WEICKMANN (bis 31.1.01)  
DIPL.-ING. F. A. WEICKMANN  
DIPL.-CHEM. B. HUBER  
DR.-ING. H. LISKÁ  
DIPL.-PHYS. DR. J. PRECHTEL  
DIPL.-CHEM. DR. B. BÖHM  
DIPL.-CHEM. DR. W. WEISS  
DIPL.-PHYS. DR. J. TIESMEYER  
DIPL.-PHYS. DR. M. HERZOG  
DIPL.-PHYS. B. RUTTENSBERGER  
DIPL.-PHYS. DR.-ING. V. JORDAN  
DIPL.-CHEM. DR. M. DEY  
DIPL.-FORSTW. DR. J. LACHNIT

---

Guanidinophenylalaninverbindungen als Urokinase-Inhibitoren

---

## **Guanidinophenylalaninverbindungen als Urokinase-Inhibitoren**

### **Beschreibung**

5

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Derivaten des 3-Guanidinophenylalanins als Urokinase-Inhibitoren, insbesondere zur Behandlung von malignen Tumoren und der Metastasierung bzw. als Mittel zum Targeting von Lymphzellen, und zur Behandlung von Erkrankungen des Lymphgewebes, insbesondere von Lymphomen.

10

Die Fähigkeit solider Tumoren zur Ausbreitung und Metastasierung in umgebendes Gewebe korreliert mit dem Abbau bzw. Umbau der extrazellulären Matrix (Tumorstroma) in der Umgebung der Tumorzelle bzw. mit deren Fähigkeit zur Durchdringung der Basalmembran. Obwohl die (patho)biochemischen Zusammenhänge noch nicht endgültig aufgeklärt sind, kommen dem Plasminogenaktivator Urokinase (uPA) und dem Urokinaserezeptor (uPAR) eine zentrale Bedeutung zu. uPA vermittelt die proteolytische Spaltung von Plasminogen zu Plasmin. Plasmin wiederum ist eine Protease mit breitem Wirkungsspektrum, die Komponenten der extrazellulären Matrix wie Fibrin, Fibronectin, Laminin und das Proteingerüst der Proteoglykane direkt abzubauen vermag. Außerdem kann Plasmin "latente" Metalloproteasen und das inaktive Proenzym von uPA, pro-uPA, aktivieren.

15

20

25

Tumorzellen und nichtmaligne Zellen des Tumorstromas synthetisieren und sezernieren das enzymatisch inaktive Proenzym pro-uPA. Proteasen, wie z.B. Plasmin oder die Kathepsine B und L, spalten pro-uPA durch limitierte Proteolyse zur aktiven Serinprotease HMW-uPA (HMW=high molecular weight). pro-uPA und die aktive Protease HMW-uPA binden an den Zelloberflächenrezeptor uPAR (CD87). Plasmin(ogen) bindet ebenfalls an spezifische Rezeptoren auf der Plasmamembran der Tumorzelle, wodurch

30

eine Fokussierung und Amplifikation der Plasminogenaktivierung in der direkten Umgebung der Tumorzelle erreicht wird. Invasiven Zellen ist somit die Möglichkeit gegeben, die extrazelluläre Matrix abzubauen, ohne sich der für eine gerichtete Bewegung notwendigen Unterlagen durch Proteolyse zu entziehen.

In verschiedenen zellbiologischen Studien konnte gezeigt werden, dass dem zellassoziierten Plasminogenaktivator-System innerhalb der kaskadenartigen Reaktionswege tumorassoziiierter Proteolysesysteme ein besonderer Stellenwert zukommt (Wilhelm et al. (1994) The Urokinase/Urokinase receptor system: A new target for cancer therapy? In: Schmitt M., Graeff H., Kindermann G. (Hrsg): Prospects in Diagnosis and Treatment of Cancer. International Congress Series, Excerpta Medica 1050, Amsterdam, Elsevier 1994, pp145-156). An Kulturen humaner Kolonkarzinomzellen wurde beobachtet, dass deren Fähigkeit, eine extrazelluläre Matrix zu durchwandern, vom Sättigungsgrad der uPA-Rezeptoren mit aktivem uPA abhängig ist (Hollas et al., Cancer Res. 51 (1991), 3690-3695). Ebenfalls im Zellkulturmodell wurde eine Reduktion des invasiven Potenzials von Zellen beobachtet, wenn die proteolytische Aktivität von uPA durch PAI-1 (Cajot et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990), 6939-6943) oder PAI-2 (Baker et al., Cancer Res. 50 (1990), 4676-4684) gehemmt wurde. Ein vergleichbarer Effekt wurde bei Hemmung der Bindung von uPA an die Zelloberfläche durch Blockierung des Rezeptors mittels proteolytisch inaktiver uPA-Varianten erzielt (Cohen et al., Blood 78 (1991), 479-487; Kobayashi et al., Br. J. Cancer 67 (1993), 537-544). Auch die Transfektion epidermoider Karzinomzellen mit einem Plasmid, das ein Antisense-Transkript gegen einen Teil von uPAR exprimiert, führte durch Unterdrückung der uPAR-Synthese zur Verringerung der Invasivität dieser Zellen (Kook, EMBO J. 13 (1994), 3983-3991). Gegen uPA und PAI-1 gerichtete Antikörper reduzierten das invasive Potential von Lungenkrebszellen *in vitro* (Liu et al., Int. J. Cancer 60 (1995), 501-506).

Der Einfluss des Plasminogenaktivator-Systems auf den Metastasierungsprozess konnte auch in Tumor-Tiermodellen belegt werden. So wurden die durch menschliche Karzinomzellen verursachte Bildung von Lungenmetastasen in Hühnerembryos durch Zugabe von Antikörpern gegen uPA fast vollständig verhindert (Ossowski und Reich, Cell 35 (1983), 611-619). Metastasierende menschliche Karzinomzellen wurden mit einem Expressionsplasmid transfiziert, das für eine proteolytisch inaktive, aber uPAR-bindende uPA-Mutante kodierte. Im Mausmodell zeigte sich, dass die Karzinomzellen, die inaktives uPA synthetisierten, nach Injektion im Vergleich zu den nichttransfizierten Zellen eine signifikant geringere Anzahl an Metastasen bildeten (Crowley et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993), 5021-5025). Nach Verabreichung von uPA-Antisense Oligonukleotiden wurde darüber hinaus eine Inhibierung der intraperitonealen Ausbreitung von humanen Ovarialkarzinomzellen in Nacktmäusen beobachtet (Wilhelm et al., Clin. Exp. Metast. 13 (1995), 296-302).

In den letzten Jahren wurde die klinische Relevanz von Faktoren des Plasminogenaktivator-Systems (uPA, uPAR, PAI-1 und PAI-2) für die Prognose von Patienten mit soliden malignen Tumoren intensiv untersucht. Dabei erwies sich der uPA-Antigengehalt bei verschiedenen Tumoren (z.B. Brust, Eierstock, Magen, Lunge, Niere etc.) sowohl für das rezidivfreie Überleben als auch für das Versterben als ein starker Prognosefaktor (siehe beispielsweise Schmitt et al., J. Obstet. Gynaecol. 21 (1995), 151-165; Jaenicke et al., Breast Cancer Res. Treat. 24 (1993), 195-208; Kuhn et al., Gynecol. Oncol. 55 (1994), 401-409; Nekarda et al., Lancet 343 (1994), 117; Pedersen et al., Cancer Res. 54 (1994), 4671-4675). Ebenso korrelieren erhöhte Konzentrationen an uPAR in Lungen- (Pedersen et al., supra) und Brustkrebsgewebe (Duggan et al., Int. J. Cancer 61 (1995), 597-600; Ronne et al., Breast Cancer Res. Treat. 33 (1995), 199-207) sowie bei Magenkrebs, sowohl im Tumorgewebe selbst (Heiss et al., J. Clin. Oncol. 13 (1995), 2084-2093) als auch bei den ins Knochenmark

ausgestreuten Tumorzellen (Heiss et al., Nature Medicine 1 (1995), 1035-1039) mit einer schlechten Prognose.

Der Einsatz von synthetischen uPA-Inhibitoren bietet die Möglichkeit, die Invasion und Ausbreitung von Tumorzellen zu unterdrücken. Allerdings ist die Entwicklung spezifischer uPA-Inhibitoren mit Schwierigkeiten behaftet, da der Plasminogenaktivator vom Gewebetyp (tPA) eine identische Spezifität für die Spaltung der Peptidbindung Arg560/Val561 von Plasminogen aufweist. In den meisten Fällen hemmen daher niedermolekulare uPA-Inhibitoren auch tPA und damit auch tPA-vermittelte Fibrinolyse. Außerdem muss gewährleistet sein, dass synthetische uPA-Inhibitoren keine starke Hemmung von Plasmin zeigen.

Trotz dieser Einschränkungen sind einige Hemmstoffe bekannt, die eine gewisse Spezifität gegenüber uPA, jedoch geringe inhibitorische Kapazität besitzen, wie etwa Benzamidin- und  $\beta$ -Naphthamidin-Derivate, wobei die wirksamste Verbindung uPA mit  $K_i = 2,2 \mu\text{mol/l}$  hemmt (Stürzebecher und Markwardt, Pharmazie 33 (1978), 599), oder Amilorid mit einem  $K_i = 7 \mu\text{mol/l}$  (Vassalli und Belin, FEBS. Lett. 214 (1987), 187-191).

DE-A-30 35 086 offenbart Cyclohexancarbonsäurederivate, die inhibitorische Wirkungen auf Proteasen wie Trypsin, Chymotrypsin, Thrombin oder uPA, haben. Die untersuchten Verbindungen zeigen jedoch nur eine recht geringe und darüber hinaus unspezifische uPA-Inhibierung. EP-A-0 183 271 offenbart Lysinderivate und deren Verwendung als Proteaseinhibitoren. Es wird auch ein Benzamidino-Lysinderivat (Verbindung 108) beschrieben, das *in vitro* eine uPA-Hemmung, jedoch auch eine vergleichbare Wirkung auf andere Proteasen wie Trypsin oder Plasma-Kallikrein aufweist. WO 95/17885 offenbart niedermolekulare Polypeptide als uPA-Inhibitoren.

Eine weitere Klasse von bekannten uPA-Inhibitoren stellen 4-substituierte Benzothiophen-2-carboxamidine mit einem  $K_i = 0,16$  mmol/l im Falle von Benzothiophen-623 dar (Towle et al., Cancer Res. 53 (1993), 2553-2559). Diese Hemmstoffe haben eine signifikant höhere Affinität für uPA im Vergleich zu tPA und Plasmin. Auch uPAR-gebundenes uPA wird mit hoher Effizienz gehemmt. Ein Nachteil dieser Substanzen liegt allerdings darin, dass die chemische Synthese kompliziert ist und kaum Möglichkeiten für die Modifizierung der Struktur vorhanden sind bzw. bisher gezeigt werden konnte.

$N\alpha$ -Arylsulfonyl- und  $N\alpha$ -Arylsulfonyl-amino-acyl-Derivate des 3-Amidinophenylalanins sind als selektive Hemmstoffe von Thrombin (Markwardt et al., Thromb. Res. 17 (1980), 425-431) bzw. von Gerinnungsfaktor Xa (Stürzebecher et al., Thromb. Res. 54 (1989), 245-252) bekannt. Auch in WO 92/08709 und WO 96/05189 wird die Verwendung von Amidinophenylalaninderivaten als Hemmstoffe für die Blutgerinnung, insbesondere als Hemmstoffe für Thrombin, offenbart. In WO 94/18185 werden Amidino- und Guanidinoderivate des Phenylalanins und deren Verwendung als Hemmstoffe der Blutgerinnung, insbesondere als antithrombotisch wirkende Stoffe offenbart.

Intensiv wurden Piperidide und Piperazide des 3-Amidinophenylalanins untersucht, unter denen auch Leitstrukturen zur Hemmung fibrinolytischer Enzyme gefunden wurden (Stürzebecher et al., J. Enzyme Inhibition 9, 87-99, 1995; Stürzebecher et al., J. Med. Chem. 40, 3091-3099, 1997). Während bei Stürzebecher et al. (1995) nur eine Hemmung von Thrombin, Faktor Xa, Plasmin und Trypsin beschrieben ist, finden sich bei Stürzebecher et al. (1997) auch Angaben zur Hemmung von uPA. Bei  $N\alpha$ -2-Naphthylsulfonyl-,  $N\alpha$ -2-(2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-yl)sulfonyl- und  $N\alpha$ -2-Campher-10-yl-sulfonyl-substituierten 3-Amidinophenylalanin-piperaziden wird für uPA ein  $K_i$ -Wert von 28 bis 140  $\mu$ mol/l gefunden, der

um drei Größenordnungen höher als die Inhibitionskonstante für Thrombin ist.

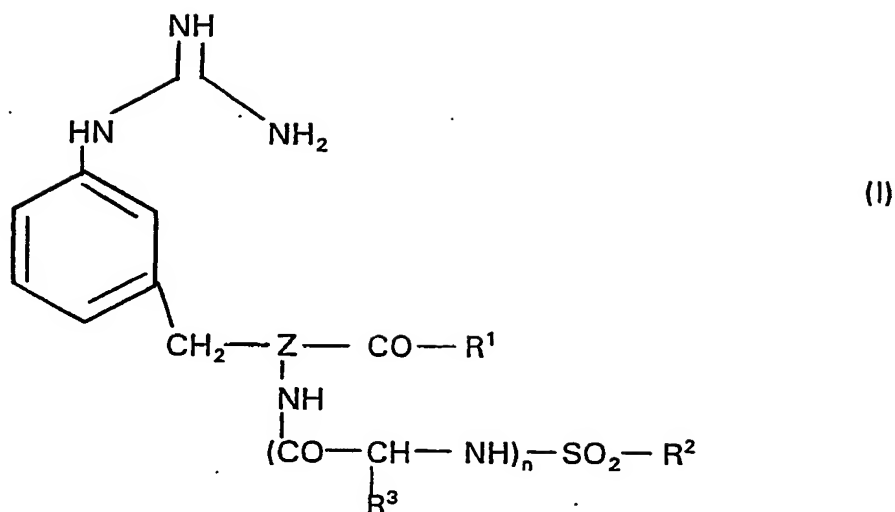
Es wurde auch gefunden, dass an Position 2 mit einem Phenylrest substituierte 3-Amidinophenylalaninderivate selektive und *in vivo* wirksame Hemmstoffe von uPA darstellen (PCT/EP99/05145). Weiterhin wurde gefunden, dass diese Substanzen eine hohe Selektivität für Lymphgewebe aufweisen und sich daher als Mittel zum Targeting von Lymphzellen, beispielsweise zur Behandlung von malignen Erkrankungen des Lymphgewebes, wie etwa Lymphomen, eignen.

Es besteht aber nach wie vor ein Bedarf an der Entwicklung weiterer Hemmstoffe mit einer höheren Selektivität für uPA, um die Rolle, die uPA und uPAR bei verschiedenen Krankheiten, speziell bei der Tumorausbreitung und Metastasierung spielen, weiter aufzuklären.

Überraschenderweise konnte nun gefunden werden, dass ein Austausch der Amidinofunktion durch die Guanidinofunktion bei den Phenylalaninderivaten die Hemmwirkung bezüglich uPA nicht nachteilig beeinflusst und derartige Inhibitoren darüber hinaus eine hohe Selektivität für uPA aufweisen.

Die vorliegende Erfindung betrifft von 3-Guanidinophenylalanin abgeleitete neue Urokinase-Inhibitoren der allgemeinen Formel I,





15 die als Racemate sowie als L- bzw. D-konfigurierte Verbindungen vorliegen und in denen

R1 (a) OH oder OR<sup>4</sup> ist, wobei R<sup>4</sup> ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes, verzweigtes oder unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl oder Aralkyl, z.B. Benzyl oder Phenylethyl ist,

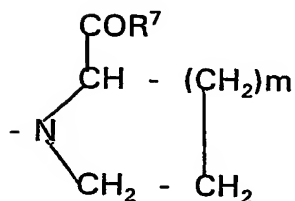
20 (b) eine Gruppe der Formel  $\begin{array}{c} \text{R}^5 \\ \diagup \\ \text{N} \\ \diagdown \\ \text{R}^6 \end{array}$  darstellt, in welcher R<sup>5</sup> und

R<sup>6</sup> beliebige mit der Gesamtstruktur kompatible Reste sind, wobei insbesondere

- 25
- (i) R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> H sind,
  - (ii) R<sup>5</sup> H ist und R<sup>6</sup> ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes verzweigtes oder unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, Aralkyl, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, oder C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> Cycloalkyl ist,
- 30

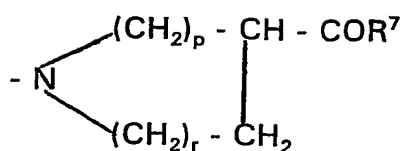
- (iii)  $R^5$  und  $R^6$  jeweils unabhängig ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl oder/und Halogen substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes  $C_1$ - $C_4$  Alkyl sind oder
- (iv)  $R^5$  H ist und  $R^6$   $-NH_2$  oder eine insbesondere mit Aryl oder Heteroaryl substituierte Aminogruppe ist,
- (v)  $R^5$  H oder ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl oder/und Halogen substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes  $C_1$ - $C_4$  Alkyl ist und  $R^6$  der Rest einer Aminosäure, z.B. einer  $\alpha$ -,  $\beta$ - oder  $\omega$ -Aminocarbon- oder Aminosulfonsäure, oder der Rest eines Peptids z.B. mit einer Länge bis zu 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids z.B. mit einer Länge von mehr als 50 Aminosäuren bis 1.000 Aminosäuren ist,

(c) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls z.B. mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-,  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl- oder Aralkylrest, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, substituiert sind, wobei die Gruppe (c) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist, und  $R^7$  die Bedeutung von  $R^1$  in den Ziffern (a), (b) und (f) aufweist,

(d) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $p = r = 1$ ,  $p = 1$  und  $r = 2$  oder  $p = 2$  und  $r = 1$  sind und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls z.B. mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-,  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl- oder Aralkylrest, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, substituiert sind, und  $R^7$  die Bedeutung von  $R^1$  in Ziffer (a), (b) und (f) aufweist,

- (e) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 z.B. mit einem  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl-,  $C_1$ - $C_3$ -Alkoxy- oder Hydroxylrest substituiert ist,

wobei gegebenenfalls an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (c), (d), (e) ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring, vorzugsweise Phenyl oder Cyclohexyl, in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert ist,

- (f) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $R^8$

- (i) einen gegebenenfalls z.B. mit  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl- oder Arylrest, wie z.B. Phenyl, p-Halogenphenyl, Naphthyl,
- (ii) einen gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten  $C_1$ - $C_6$ -Alkoxyrest oder

- (iii) einen gegebenenfalls z.B. mit  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenoxy- bzw. Benzyloxycarbonylrest bedeutet,

5

- (g) einen Acylrest der Formel  $-COX$  darstellt, wobei X

(i) H, einen gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten, unverzweigten oder verzweigten Alkylrest, vorzugsweise einen  $C_1$ - $C_6$ -Alkylrest, insbesondere Methyl,

10

(ii) einen gegebenenfalls z.B. mit  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Aryl- oder Heteroarylrest, wie z.B. Phenyl, p-Halogenphenyl, Thienyl oder

15

(iii) einen gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Cycloalkylrest, vorzugsweise einen  $C_3$ - $C_{10}$ -Cycloalkylrest bedeutet,

20

- (h) einen Aralkylrest, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, darstellt, in dem der aromatische Rest gegebenenfalls z.B. mit einem Halogenatom, einer  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl-,  $C_1$ - $C_3$ -Alkoxy-, Hydroxy-, Cyano-, Carboxyl-, Sulfonyl- oder Nitrogruppe substituiert ist,

25

- (i) einen Carbonsäureamidrest der Formel  $-CONR'R''$ , einen Thiocarbonsäureamidrest  $-CSNR'R''$  oder einen Essigsäureamidrest  $-CH_2-CONR'R''$  darstellt, wobei

30

- (i)  $R'$  und  $R''$  H sind,  
(ii)  $R'$  und  $R''$  jeweils unabhängig  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl sind,  
(iii)  $R'$  H ist und  $R''$   $C_1$ - $C_4$ -Alkyl ist,

- (iv) R' H ist und R" Aryl, z.B. Phenyl, ist oder
- (v) R' und R" mit dem Stickstoffatom einen heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weiteres Heteroatom, z.B. N, O oder/und S tragen kann, bilden,

5

- (j) einen SO<sub>2</sub>-Y-Rest darstellt, in dem Y
  - (i) ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, vorzugsweise Methyl, Trifluormethyl, Trichlormethyl,
  - (ii) ein gegebenenfalls z.B. mit C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes Aryl oder Heteroaryl, wie z.B. Phenyl, 4-Methyl-phenyl, 2,4,6-Trimethyl-phenyl, 2,4,6-Triisopropyl-phenyl, 4-Methoxy-2,3,6-Trimethyl-phenyl, 2,2-Dimethyl-6-methoxy-chromanyl, 2,2,5,7,8-Pentamethyl-chromanyl, Anthrachinonyl, Naphthyl oder Chinolyl, bzw. O-Aryl, vorzugsweise O-Phenyl, oder O-Heteroaryl oder
  - (iii) -NR'R" ist, wobei R' und R" jeweils unabhängig H oder C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl bedeuten,

10

15

20

- (k) einen cycloaliphatischen Ring mit 5 bis 8 C-Atomen darstellt, der gegebenenfalls z.B. mit einer C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy-, Halogen-, Hydroxyl- oder/und Oxogruppe substituiert ist,

25

- (l) einen gegebenenfalls z.B. mit C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Heteroarylrest, wie z.B. Pyridyl oder Pyrimidyl, oder heterocycloaliphatischen Rest, beispielsweise N-Methylpiperidyl darstellt,

30

(m) einen funktionalisierten Alkylrest der Formel  $-(CH_2)_n-X$  darstellt, wobei die Alkylkette unverzweigt oder verzweigt ist,  $n = 1$  bis 8 bedeutet und der funktionelle Rest X

(i) eine Hydroxylgruppe darstellt, deren H-Atom gegebenenfalls durch eine  $C_1-C_4$ -Alkyl-, Aralkyl-, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, Aryl-, z.B. Phenyl,  $C_1-C_4$ -Hydroxyalkyl- oder Acylgruppe CO-Alkyl,  $(C_1-C_6)$ , substituiert ist,

(ii) ein Halogenatom bedeutet,

(iii) eine tertiäre Aminogruppe der Formel  $-N(Alk)_2$  darstellt, wobei die Alkylgruppen 1 bis 3 C-Atome sowie vorzugsweise die gleiche Bedeutung besitzen und das Stickstoffatom gegebenenfalls einem heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weiteres Heteroatom, z.B. N, O oder/und S tragen kann, angehört,

$R^2$  einen gegebenenfalls z.B. mit  $C_1-C_6$ -Alkyl,  $C_1-C_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenylrest, wie beispielsweise Phenyl, 4-Methylphenyl, 2,4,6-Trimethylphenyl, 2,4,6-Triisopropylphenyl, 4-Methoxy-2,3,6-trimethylphenyl darstellt,

$R^3$  H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes  $C_1-C_4$ -Alkyl ist und n 0 oder 1 bedeutet,

Z N oder  $CR^9$  bedeutet, wobei  $R^9$  H oder verzweigtes oder unverzweigtes  $C_1-C_4$ -Alkyl ist.

Die Verbindungen können auch als Salze, vorzugsweise als physiologisch verträgliche Säuresalze, z.B. als Salze von Mineralsäuren, besonders

bevorzugt als Hydrochloride, oder als Salze von geeigneten organischen Säuren vorliegen.

Von den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Verbindungen sind  
5 solche, bei denen  $R^1$  einer Gruppe der Formeln (b), (d) und (f) entspricht,  $R^2$  einen einfach, zweifach oder dreifach alkylsubstituierten Phenylrest, insbesondere einen 2,4,6-substituierten Phenylrest, z.B. einen 2,4,6-Triisopropylphenyl-Rest darstellt, und  $n = 0$  ist, von besonderer Bedeutung. Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen, bei denen  $Z$  CH oder  
10 N ist.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können in prinzipiell bekannter Weise, wie z.B. in WO 92/08709 und WO 94/18185 beschrieben, hergestellt und auf ihre biologische *in vitro* Aktivität getestet werden.

15 (L)-, (D)- oder (D,L)-3-Nitrophenylalanin wird mit einem entsprechenden Sulfonylchlorid oder einer sulfonylierten Aminosäure bzw. deren Halogenid in Gegenwart einer Base zu einer Verbindung der allgemeinen Formel I mit Nitrofunktion, in der  $R^1 = OH$  ist und  $R^2$  sowie  $R^3$  und  $n$  den in den  
20 allgemeinen Ansprüchen definierten Bedeutungen entspricht, umgesetzt. Die erhaltenen Verbindungen werden durch Veresterung mit einem entsprechenden Alkohol unter säurekatalytischen Bedingungen zu Verbindungen der allgemeinen Formel I überführt, wobei  $R^1 = (a)$  bedeutet. Nach einem in der Peptidchemie üblichen Verfahren, z.B. DCC-Verfahren in  
25 Gegenwart von HOBt, sind durch Umsetzung der Carbonsäuren der allgemeinen Formel I ( $R^1 = -OH$ ) mit einem Nukleophil der Strukturen (b), (e) und (f) die Verbindungen mit entsprechendem  $R^1$  der allgemeinen Formel I darstellbar. Für die Synthese von Verbindungen mit  $R^1 = (c)$  und (d) werden zunächst die Carbonsäuren der allgemeinen Formel I mit  $R^1 = OH$   
30 mit cycloaliphatischen Aminosäureestern der Strukturen (c) und (d), wobei  $R^7$  vorzugsweise  $-OCH_3$  bzw.  $-OC_2H_5$  bedeutet, umgesetzt, die erhaltenen Carbonsäureester unter milden sauren oder alkalischen Bedingungen zu den

entsprechenden Carbonsäuren hydrolysiert, die nachfolgend in bereits beschriebener Weise verestert oder mit Nukleophilen der Struktur (b), (e) und (f) umgesetzt werden können, wobei Verbindungen der allgemeinen Formel I mit  $R^1 = (c)$  sowie (d) und  $R^7 = (a), (b), (e)$  und (f) erhalten werden.

Zielverbindungen der allgemeinen Formel I mit Guanidinstruktur sind aus den Nitroverbindungen in bekannter Weise erhältlich, wobei in der Regel durch Reduktion der Nitrogruppe zunächst die entsprechenden Amine erhalten werden, die durch Umsetzung mit einem geeigneten Guanidinylierungsreagenz, wie beispielsweise Guanylpirazol, in die Guanidinoverbindungen überführt werden.

Die erfindungsgemäßen Urokinaseinhibitoren können gegebenenfalls zusammen mit mindestens einem geeigneten pharmazeutischen Hilfs- oder Trägerstoff zur Herstellung von oral, subkutan oder intravenös verabreichbaren Arzneimitteln zur Tumorbekämpfung oder in der Diagnostik verwendet werden. Ebenfalls möglich ist die Verabreichung in Kombination mit anderen Wirkstoffen, z.B. anderen Urokinaseinhibitoren, wie etwa Antikörpern oder/und Peptiden.

Die Arzneimittel zur Tumorbekämpfung bei Menschen und Tieren können topisch, oral, rektal oder parenteral, z.B. subkutan oder intravenös, in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflastern, verabreicht werden.

Besonders bevorzugt handelt es sich bei der Verbindung der Formel (I) um  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid-hydrochlorid bzw. um das L-Entantiomere davon oder um ein pharmazeutisch verträgliches Salz dieser Verbindungen. Diese Substanzen haben ein gutes Löslichkeitsverhalten.



Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in der Lage, hocheffizient das Wachstum oder/und die Ausbreitung von malignen Tumoren zu hemmen, z.B. die Tumorausbreitung beim Pankreaskarzinom, das Tumorwachstum des Mammakarzinoms sowie die Metastasierung von Tumoren. Dabei können die uPA-Inhibitoren gegebenenfalls zusammen mit anderen Antitumormitteln oder mit anderen Behandlungsarten, z.B. Bestrahlung oder chirurgischen Eingriffen, eingesetzt werden. Weiterhin sind die erfindungsgemäßen Inhibitoren auch für andere uPA-assoziierte Erkrankungen wirksam (z.B. bei der Verhinderung der Blasenbildung bei der Hauterkrankung Pemphigus vulgaris).

Erfindungsgemäße uPA Inhibitoren sind vorzugsweise dadurch gekennzeichnet, dass sie einen mindestens 2-fach, vorzugsweise mindestens 5-fach und besonders bevorzugt mindestens 10-fach geringeren  $K_i$ -Wert für uPA gegenüber Plasmin, Thrombin oder/und tPA aufweisen. Daher ist bemerkenswert, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen die Blutgerinnung nur geringfügig beeinflussen, und somit eine überraschende Selektivität aufweisen.

Die erfindungsgemäßen Substanzen der Formel I können in Form von Konjugaten mit physiologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden, z.B. mit Radiomarkierungen oder mit zytotoxischen Mitteln, z.B. Chemotherapeutika, wie cis-Platin, Carboplatin, 5-Fluor-Uracil, Doxorubicin, Epirubicin oder Taxol, oder Peptiden. Weiterhin können die Substanzen auch in die Membran von Trägervesikeln, z.B. Liposomen, eingebaut werden und somit ein Targeting von in den Trägervesikeln eingeschlossenen Wirksubstanzen, z.B. zytotoxischen Mitteln, wie etwa Doxorubicin, ermöglichen.

Die Erfindung soll an dem folgenden Beispiel und der Abbildung näher erläutert werden. Es zeigt:

**Figur 1** ein Syntheschema der erfindungsgemäß bevorzugten Substanz  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-guanidino-(L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazin.

**5 Beispiel 1**

**Synthese von  $N\alpha$ -2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl-3-guanidino-(L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazin-hydrochlorid**

**10 1.1 N-Acetyl-(D/L)-(3-nitro-phenylalanin)**

Eine Lösung von 3-Nitrobenzylbromid (7,5 g; 35,7 mmol), Acetamidomalonsäurediethylester (7,54 g; 35,7 mmol) und Kaliumiodid (0,3 g; 1,79 mmol) in Dioxan abs. wird unter Argon bei 80 °C gerührt, während man eine Natriumethanolat-Lösung (25 ml, 37,5 mmol) über 1,5 h zutropft. Die Reaktionsmischung wird 2 h refluxiert und über Nacht bei RT gerührt. Nach Zugabe von 3M NaOH (24 ml) bei 80 °C wird weitere 4 h bei 95 °C gerührt. Das Dioxan wird abdestilliert und die wäßrige Phase 3x mit Ethylacetat (30 ml) extrahiert. Anschließend wird die wässrige Phase mit 1M HCl auf pH 1 angesäuert und 3x mit Ethylacetat (30 ml) extrahiert. Beim langsamen Eindampfen der 3 letzten vereinigten Ethylacetatphasen kristallisiert das Produkt aus. Es wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

**25 Ausbeute:** 6 g (69 %), ESI-MS: m/z: 253,3 (M+H)<sup>+</sup>; berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 252,2

**1.2 (L)-(3-Nitro-phenylalanin)**

**30** Eine Lösung von N-Acetyl-(D/L)-(3-nitro-phenylalanin) (1.1) (5,75 g; 22,8 mmol) in 350ml Wasser wird mit 1M NaOH auf pH 7,5 eingestellt. Nach Zugabe von Amano Acylase (0,25 g) wird die Mischung bei 37-38 °C 6

Tage langsam gerührt. Anschließend wird mit 1M HCl auf pH 3 angesäuert und 3x mit Ethylacetat (je 100 ml) extrahiert und die organische Phase verworfen. Der pH-Wert der wässrigen Lösung wird mit 1M NaOH auf 6,8 eingestellt, das Wasser sukzessive abdestilliert, das ausgefallene Produkt abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 1,7 g (35 %), ESI-MS: m/z: 211,3 (M+H)<sup>+</sup>; berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 210,2

### 1.3 N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-nitro-phenylalanin)

Zu einer Lösung von (L)-(3-nitro-phenylalanin)(1.2) (1,7 g; 8,09 mmol) in einer Mischung aus 1M NaOH (8 ml) und Dioxan (15 ml) wird parallel 1M NaOH (8 ml) und eine Lösung von Triisopropylphenylsulfonylchlorid (2,42 g; 7,99 mmol) in Dioxan (15 ml) während 1,5 h zugetropft. Anschließend wird die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen (50 ml) und 3x mit 5 % KHSO<sub>4</sub>-Lösung (je 25 ml) und 3x mit Wasser (je 20 ml) gewaschen. Nach Abziehen des Lösungsmittels, wird das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 3,52 g (92 %), HPLC-Reinheit ca. 80 %; ESI-MS: m/z: 477,7 (M+H)<sup>+</sup>; berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>1</sub>: 476,6

### 1.4 N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-nitro-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonyl-piperazid

Eine Lösung von N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-nitro-phenylalanin) (1.3) (3,52 g; 7,39 mmol), 1-Ethyloxycarbonylpiperazin (1,19 g; 7,47 mmol) und HOBt (1,53 g; 11,3 mmol) in absolutem DMF (15 ml) wird auf 0 °C gekühlt und eine Lösung von DCC (1,7 g; 3,91 mmol) in DMF (10 ml) zugetropft. Der Reaktionsansatz wird 18 h bei RT gerührt. Nach Einengen

des Lösungsmittels im Vakuum auf ca. 7 ml wird mit Ethylacetat verdünnt (50 ml) und 3x mit 5 %  $\text{KHSO}_4$ -Lösung und 3x mit Wasser gewaschen. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt durch Flash Chromatographie über eine Kieselgelsäule (Gradient: Petrolether:Methyl-  
5 tert-Butylether (MTBE) 1:1 bis MTBE:Ethylacetat 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 1,45 g (32 %), ESI-MS:  $m/z$ : 617,9 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>; berechnet für  $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_1$ : 616,8

#### 10     **1.5    N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-amino-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonylpiperazid**

Eine Lösung von N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-nitro-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonyl-piperazid (1.4) (1,4 g; 2,27 mmol) in Ethanol wird bei  
15 RT 8 h über 0,15 g 10 % Pd auf Aktivkohle hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das Produkt im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,35 g (98 %), ESI-MS:  $m/z$ : 587,9 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>; berechnet für  
20  $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_1$ : 586,8

#### 1.6    N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-(N'N''bis-BOC-guanidino)-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonylpiperazid

25 Eine Lösung von N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-amino-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonylpiperazid (1.5) (0,5 g; 0,85 mmol) und N,N'-Di-BOC-guanyl-pyrazol (0,27 g; 0,85 mmol) in Methylenchlorid (10 ml) wird 6 d bei RT unter Argon gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und 3x mit  
30 5 %  $\text{KHSO}_4$ -Lösung und 3x mit 5 %  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (je 15 ml) extrahiert. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt

chromatographisch über eine Kieselgelsäule gereinigt (Gradient Petrolether (PE)/Ethylacetat (EE) 4:1 bis PE/EE 7:3).

Ausbeute: 0,6 g (85 %), ESI-MS: m/z: 829,9 (M+H)<sup>+</sup>; berechnet für  
5 C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>S<sub>1</sub>: 829,1

### 1.7 N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-guanidino-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonylpiperazid

10 N-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-(3-(N'N''bis-BOC-guanidino)-phenylalanin)-4-ethyloxy-carbonylpiperazid (1.6) (0,5 g; 0,603 mmol) wird durch Rühren in 4M HCl in Dioxan (8 ml) entschützt. Das Lösungsmittel wird  
abgezogen, der Rückstand in wenig Methanol aufgenommen und in MTBE (35 ml) gegossen, wobei das Produkt ausfällt und anschließend abfiltriert  
15 und im Vakuum getrocknet wird.

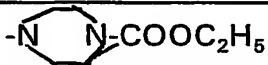
Ausbeute 0,18 g (49 %), ESI-MS: m/z: 629,5 (M+H)<sup>+</sup>; berechnet für  
C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>1</sub>: 628,8; HPLC: t<sub>R</sub> = 6,8 min

20 Die Charakterisierung der Verbindungen erfolgte massenspektrometrisch mittels eines Waters ZQ 2000 ESI-MS Massenspektrometer (Waters GmbH, Eschborn, Deutschland); eine Reinheitsprüfung erfolgte mittels HPCL mit einer X-Terra Säule C8, 150 x 2,1 mm Ø (Waters GmbH, Eschborn, Deutschland), Gradient: Wasser/Methanol 50:50 bis 5:95 in 15 min.

25

30

2. In vitro Hemmung von Urokinase durch ausgewählte Verbindungen der Formel I

Konfiguration	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n	K <sub>i</sub> μmol/l
L		TIPP	0	0,47

Abkürzungen: TIPP - 2,4,6-Triisopropylphenyl

Bestimmung der Hemmwirkung

Zur Bestimmung der Inhibitoraktivität wurden 200 μl Tris-Puffer (0,05 mol/l, den Inhibitor enthaltend, 0,154 mol/l NaCl, 5% Ethanol pH 8,0), 25 μl Substrat (Pefachrome UK oder Bz-βaAla-Gly-Arg-pNA in H<sub>2</sub>O; Pentapharm Ltd., Basel, Schweiz) und 50 μl sc-Urokinase (Ribosepharm GmbH, Haan, Deutschland) bei 25°C inkubiert. Nach 3 min. wurde die Reaktion durch Zugabe von 25 μl Essigsäure (50%) unterbrochen und die Absorption bei 405 nm mittels Microplate Reader (MR 5000, Dynatech, Denkendorf, Deutschland) bestimmt. Die K<sub>i</sub>-Werte wurden nach Dixon durch lineare Regression mittels eines Computerprogramms ermittelt. Die K<sub>i</sub>-Werte sind das Mittel aus mindestens 3 Bestimmungen, die Standardabweichung lag unter 25%.

3. In vitro Hemmung verschiedener Serinproteasen vom Trypsin-Typ durch (N $\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-(L)-3-guanidino-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid (uPA-Inhibitor)

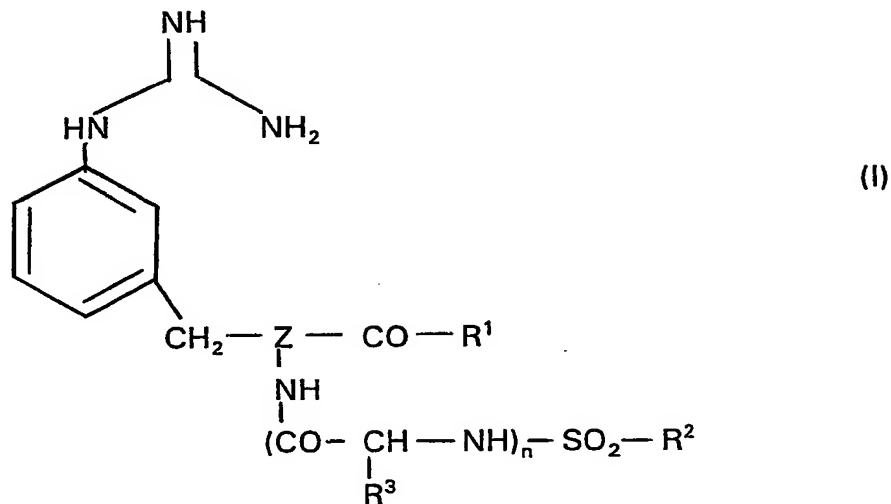
	$K_i$ [ $\mu$ mol/l]
Enzym	uPA-Inh.
Urokinase	0,47
Plasmin	3,8
Thrombin	$\geq 12$

Die Bestimmung der Hemmwirkung für die verwendeten Enzyme erfolgte nach dem in Beispiel 2 beschriebenen Prinzip.

Aus den oben angegebenen Werten ist ersichtlich, dass der erfindungsgemäße uPA-Inhibitor überraschenderweise einen um mehr als den Faktor 5 kleineren  $K_i$ -Wert als Plasmin und einen um mehr als den Faktor 10 kleineren  $K_i$ -Wert für Urokinase als für Thrombin aufweist. Somit eignen sich die erfindungsgemäßen Substanzen als selektive Urokinaseinhibitoren.

## Ansprüche

### 1. Verwendung von Verbindungen der Formel I



die als Racemate sowie als D- oder L-konfigurierte Verbindungen vorliegen und in denen

R<sup>1</sup> (a) OH oder OR<sup>4</sup> ist, wobei R<sup>4</sup> ein gegebenenfalls substituiertes, verzweigtes oder unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl oder Aralkyl ist,

(b) eine Gruppe der Formel  $\begin{array}{c} \text{R}^5 \\ | \\ \text{N} \\ | \\ \text{R}^6 \end{array}$  darstellt, in welcher R<sup>5</sup>

und R<sup>6</sup> beliebige Reste sind, wobei insbesondere

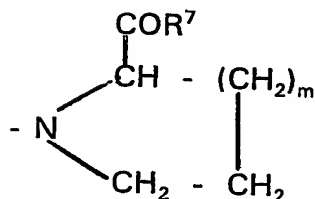
(i) R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> H sind,

(ii) R<sup>5</sup> H ist und R<sup>6</sup> ein gegebenenfalls substituiertes verzweigtes oder unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, Aralkyl, oder C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> Cycloalkyl ist,



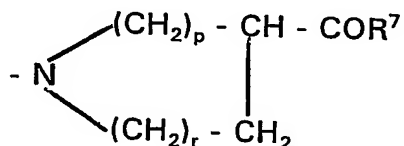
- (iii)  $R^5$  und  $R^6$  jeweils unabhängig ein gegebenenfalls substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes  $C_1$ - $C_4$  Alkyl sind oder
- (iv)  $R^5$  H ist und  $R^6$   $-NH_2$  oder eine insbesondere mit Aryl oder Heteroaryl substituierte Aminogruppe ist,
- (v)  $R^5$  H oder ein gegebenenfalls substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes  $C_1$ - $C_4$  Alkyl ist oder  $R^6$  der Rest einer Aminosäure, eines Peptids oder eines Polypeptids ist,

(c) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls substituiert sind, wobei die Gruppe (c) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist, und  $R^7$  die Bedeutung von  $R^1$  in den Ziffern (a), (b) und (f) aufweist,

(d) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $p = r = 1$ ,  $p = 1$  und  $r = 2$  oder  $p = 2$  und  $r = 1$  sind und in welcher eine oder

mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls substituiert sind, und  $R^7$  die Bedeutung von  $R^1$  in Ziffer (a), (b) und (f) aufweist.

- (e) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 substituiert ist, wobei gegebenenfalls an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (c), (d), (e) ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert ist,

- (f) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $R^8$

- (i) einen gegebenenfalls substituierten  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl- oder Arylrest,
  - (ii) einen gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten  $C_1$ - $C_6$ -Alkoxyrest oder
  - (iii) einen gegebenenfalls substituierten Phenoxy- bzw. Benzyloxycarbonylrest bedeutet,
- (g) einen Acylrest der Formel  $-COX$  darstellt, wobei X
- (i) H, einen gegebenenfalls substituierten unverzweigten oder verzweigten Alkylrest,
  - (ii) einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Heteroarylrest, oder
  - (iii) einen gegebenenfalls substituierten Cycloalkylrest bedeutet,

- (h) einen Aralkylrest darstellt, in dem der aromatische Rest gegebenenfalls substituiert ist,
- (i) einen Carbonsäureamidrest der Formel  $-\text{CONR}'\text{R}''$ , einen Thiocarbonsäureamidrest  $-\text{CSNR}'\text{R}''$  oder einen Essigsäureamidrest  $-\text{CH}_2-\text{CONR}'\text{R}''$  darstellt, wobei
- (i)  $\text{R}'$  und  $\text{R}''$  H sind,
  - (ii)  $\text{R}'$  und  $\text{R}''$  jeweils unabhängig  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -Alkyl sind,
  - (iii)  $\text{R}'$  H ist und  $\text{R}''$   $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -Alkyl ist,
  - (iv)  $\text{R}'$  H ist und  $\text{R}''$  Aryl ist, oder
  - (v)  $\text{R}'$  und  $\text{R}''$  mit dem Stickstoffatom einen heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weiteres Heteroatom tragen kann, bilden,
- (j) einen  $\text{SO}_2$ -Y-Rest darstellt, in dem Y
- (i) ein gegebenenfalls substituiertes  $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ -Alkyl,
  - (ii) ein gegebenenfalls substituiertes Aryl oder Heteroaryl bzw. O-Aryl oder O-Heteroaryl, oder
  - (iii)  $-\text{NR}'\text{R}''$  ist, wobei  $\text{R}'$  und  $\text{R}''$  jeweils unabhängig H oder  $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$ -Alkyl bedeuten,
- (k) einen cycloaliphatischen Ring mit 5 bis 8 C-Atomen darstellt, der gegebenenfalls substituiert ist,
- (l) einen gegebenenfalls substituierten Heteroarylrest oder heterocycloaliphatischen Rest darstellt,
- (m) einen funktionalisierten Alkylrest der Formel  $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$  darstellt, wobei die Alkylkette unverzweigt oder verzweigt ist,  $n = 1$  bis 8 bedeutet und der funktionelle Rest X

- (i) eine Hydroxylgruppe darstellt, deren H-Atom gegebenenfalls durch eine C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl-, Aralkyl-, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, Aryl-, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Hydroxyalkyl- oder Acylgruppe CO-Alkyl (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), substituiert ist,
- (ii) ein Halogenatom bedeutet,
- (iii) eine tertiäre Aminogruppe der Formel -N(Alk)<sub>2</sub> darstellt, wobei die Alkylgruppen 1 bis 3 C-Atome besitzen und das Stickstoffatom gegebenenfalls einem heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weiteres Heteroatom, S tragen kann, angehört,

R<sup>2</sup> einen gegebenenfalls substituierten Phenylrest darstellt,

R<sup>3</sup> H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl ist und n 0 oder 1 bedeutet,

Z N oder CR<sup>9</sup> bedeutet, wobei R<sup>9</sup> H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl ist,

oder von Salzen der Verbindungen zur Herstellung eines Mittels für die Diagnostik, Therapie und Prävention von Urokinase- oder Urokinaserezeptor-assoziierten Krankheiten.

2. Verwendung nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,

dass R<sup>1</sup> eine Gruppe der Formeln (b), (d) und (f) ist, R<sup>2</sup> einen 2,4,6-Triisopropylphenyl-Rest darstellt und n = 0 ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass die Verbindung der Formel I  $\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-  
phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-  
piperazid, das L-Enantiomer oder ein pharmazeutisch verträgliches  
Salz einer der Verbindungen ist.

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass die Verbindungen in Form von physiologisch verträglichen  
Säuresalzen, insbesondere als Hydrochloride, vorliegen.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur  
Tumorbekämpfung.

6. Verwendung nach Anspruch 5 zur Bekämpfung von  
Mammakarzinomen, Pankreaskarzinomen und der  
Metastasenbildung.

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Bekämpfung von  
Pemphigus vulgaris.

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass die Verbindungen der Formel I als Konjugate mit weiteren  
pharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden.

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass die Verbindungen der Formel I in Kombination mit weiteren  
pharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden.

10. Verwendung nach Anspruch 8 oder 9,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Verbindungen als Konjugate mit Radiomarkierungen  
oder/und in Kombination mit zytotoxischen Substanzen eingesetzt  
werden.

5

11. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Herstellung von  
oral, topisch, rektal oder parenteral verabreichbaren Arzneimitteln.

10

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11 in Form von  
Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder  
transdermalen Systemen, wie Pflastern.

15

13. Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere  
beim Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge  
mindestens eines Urokinaseinhibitors nach einem der Ansprüche 1  
bis 4.

20

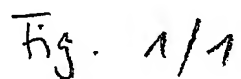
14.  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-  
phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid, das L-Enantiomer davon  
oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz einer der Verbindungen.

### **Zusammenfassung**

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Derivaten des 3-Guanidino-  
5 phenyl-alanins als Urokinase-Inhibitoren zur Behandlung von malignen  
Tumoren und der Metastasierung.

10

sa/ANM/28037P DE-11.06.2002





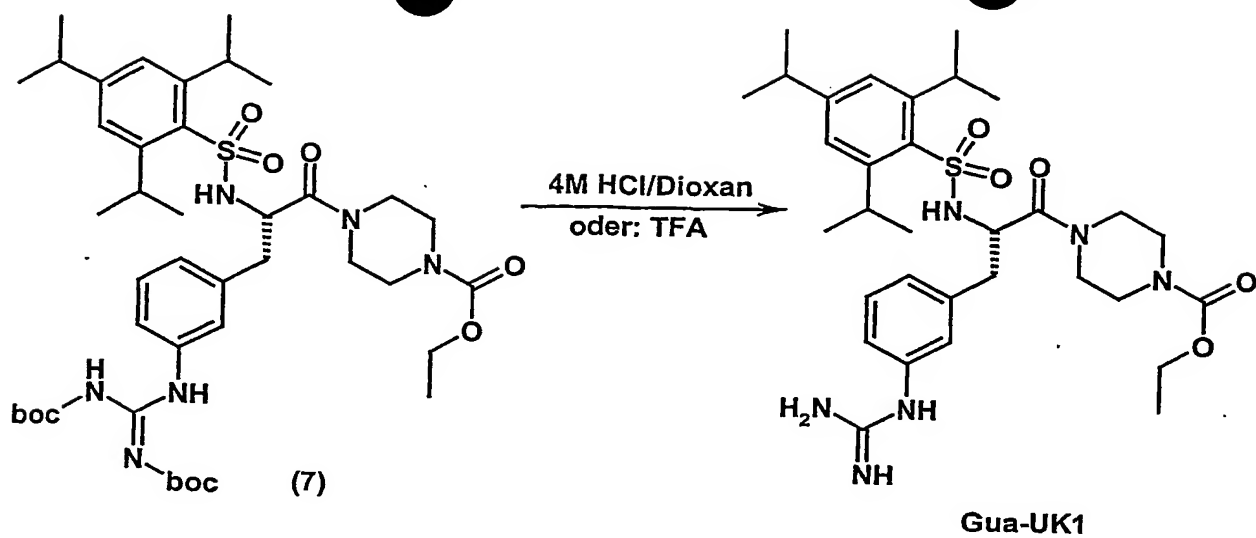


Fig. 1/2